Ein präparatives Analogon zur Trennung an dünnen Schichten: Horizontale Säulenchromatographie im Cellophanschlauch

---

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HELMUT FUCHS
aus Raich-Ried (Deutschland)

1963

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1964

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0028

Ein präparatives Analogon zur Trennung an dünnen Schichten: Horizontale Säulenchromatographie im Cellophanschlauch

---

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HELMUT FUCHS
aus Raich-Ried (Deutschland)

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1964

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. H. DAHN und Dr. CH. TAMM.

Basel, den 29. Oktober 1963.

Prof. Dr. E. BAUMGARTNER
Dekan

Herrn HELMUT FUCHS wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 17. Januar 1962 erlaubt, diesen Teildruck seiner am 29. Oktober 1963 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit den Titeln:

«*Zur Umlagerung von α-Phenylallylalkohol und -benzoat*»
«*Horizontale Säulenchromatographie im Cellophanschlauch*»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Institut für Organische Chemie der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen 45,
Fasciculus primus, 1962

Ein präparatives Analogon zur Trennung an dünnen Schichten: Horizontale Säulenchromatographie im Cellophanschlauch

In der klassischen Ausführung der TSWETT'schen Säulenchromatographie war vorgesehen, die Substanzgemische durch Entwickeln mit Fliessmittel auf der Säule zu trennen und darauf die Säule auseinanderzuschneiden[2]). Dieses Verfahren erwies sich jedoch als wenig praktisch, und auch verschiedene Varianten, die vorgeschlagen wurden, bürgerten sich nicht ein, z. B. Auftrennen von Adsorbersäulen nach dem Herausstossen aus dem Glasrohr[3]), Verwendung zerlegbarer[4]) oder geschlitzter[5]) Säulen aus Glas oder Lucit[6]) oder Verwendung von Plastikschläuchen als Rohrmaterial[7]).

In der Praxis zieht man es bei den verschiedenen Verfahren der *präparativen* Anwendung der Chromatographie vor, die Bestandteile eines Gemisches nacheinander von der intakten Säule zu eluieren, z. B. bei der Methode des «flüssigen Chromatogramms»[8]), bei der Verteilungschromatographie, bei der Chromatographie durch Ionenaustausch, wie bei der kontinuierlichen Papierchromatographie[9]) usw.

Demgegenüber arbeiten die qualitativ-analytischen Verfahren der Papierchromatographie[10]) (inklusive gewisser präparativer Ausführungsformen wie «Chromatopile»[11]) usw.) sowie der Dünnschichtchromatographie nach STAHL[12]) nach dem Prinzip, das Chromatogramm nach der Entwicklung mechanisch aufzutrennen[13]). Die letztgenannten Verfahren zeigen ausgezeichnete Trennerfolge und verlangen weniger Arbeitsaufwand und geringe Fliessmittelmengen; es ist daher wünschenswert, sie auch für Trennungen im präparativen Maßstab (d. h. für Mengen > 10 mg) heranzuziehen.

Die Trennerfolge der Dünnschichtchromatographie hängen vor allem davon ab, dass man relativ zur Substanzmenge viel Adsorbens verwendet (1:1000 bis 1:10000)

[2]) M. TSWETT, Ber. deutsch. Bot. Ges. *24*, 316, 384 (1906).

[3]) L. ZECHMEISTER & L. CHOLNOKY, Die chromatographische Adsorptionsmethode, Wien 1937, p. 63.

[4]) TH. WIELAND & H. MERZ, Chem. Ber. *85*, 731 (1952); H. FRITZ & A. BAUER, Chem. Ing. Techn. *26*, 609 (1954).

[5]) A. KURITZKES, J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. *42*, 1512 (1959).

[6]) W. R. CROWELL & O. KÖNIG, Ind. Eng. Chemistry, Analyt. Ed. *16*, 347 (1944).

[7]) H. G. VEVERS & N. MILLOT, Nature *178*, 1132 (1956).

[8]) T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Discussions Faraday Soc. *7*, 305 (1949).

[9]) J. SOLMS, Helv. *38*, 1127 (1955).

[10]) E. LEDERER, Chromatographie, Paris 1959, p. 223.

[11]) H. K. MITCHELL & F. A. HASKINS, Science *110*, 278 (1949).

[12]) E. STAHL, Chemikerzeitung *82*, 323 (1959); Arch. Pharmaz. *292/64*, 411 (1959).

[13]) Chromatographische Verfahren, die die getrennten Substanzen durch Elution *nacheinander* von der intakten Säule gewinnen, können als *Elutions-Chromatographie* bezeichnet werden, im Gegensatz zur *Entwicklungs-Chromatographie*, bei welcher die Substanzzonen nach der Entwicklung des Chromatogrammes mechanisch getrennt werden. Die einzelnen Substanzen können bei der zweiten Methode *gleichzeitig* aus dem Adsorbens entnommen werden.

und dass dieses sehr feinkörnig ist (Körnung $< 0{,}08$ mm). Will man dieses Prinzip in präparativen Maßstab (Säule) übertragen, so macht es der grosse Strömungswiderstand praktisch unmöglich, die Substanzen von der intakten Säule zu eluieren, und man ist auf mechanische Auftrennung des Säuleninhaltes angewiesen.

Nahtlose Cellophanschläuche, wie sie zum Dialysieren verwendet werden, eignen sich sehr gut zum Herstellen von Chromatographiesäulen[14]). Wenn man das Adsorptionsmaterial fest stopft, erhält man sehr solide und steife Säulen, die sich bequem handhaben lassen. Man kann sie leicht bewegen und transportieren, ohne dass im Adsorptionsmaterial Risse auftreten. Cellophan ist mechanisch sehr fest und gegen die gebräuchlichen Lösungsmittel beständig; polare Lösungsmittel wie Wasser, Methanol, Äthanol, Formamid diffundieren in geringem Mass hindurch, doch beeinflusst dies die Chromatogramme praktisch nicht. Wir fanden, dass die Verwendung sehr fein gepulverter Adsorbentien[15]) (Aluminiumoxid, Kieselgel) im Cellophanschlauch eine Reihe von Modifikationen der üblichen Arbeitstechnik verlangt. So wird das Adsorbens nicht eingeschlämmt (die Sedimentation würde zu lange dauern), sondern trocken eingefüllt und festgestampft; das zu trennende Gemisch wird, an Adsorbens (ca. 10fache Menge) gebunden, ebenfalls trocken in einer Schicht von ca. 5 mm Dicke aufgebracht. Es zeigte sich ferner, dass schon bei geringem hydrostatischem Überdruck Fliessmittel der Wand entlang läuft, wodurch die Zonen verwischt werden und sich «Fahnen» ausbilden[16]). Daher muss das Fliessmittel ohne Überdruck durch Kapillarkräfte zugeführt werden. Versuche, dies durch Anwendung einer «aufsteigenden» Technik zu bewerkstelligen, misslangen wegen zu geringer Steiggeschwindigkeit. Aus diesem Grunde wurde die Säule horizontal gelegt und ihr das zur Entwicklung erforderliche Fliessmittel kapillar über eine Glasfrittenplatte und eine Watterolle zugeführt. Auf diese Weise verliefen die Fronten sowohl des Fliessmittels als auch der einzelnen Gemischkomponenten gerade, ohne Ausbildung von «Säcken». Eine hierzu geeignete Vorrichtung (Fliessmitteltank) ist im experimentellen Teil beschrieben.

Verwendet man Aluminiumoxid oder Kieselgel, so hat man eine Variante der Adsorptionschromatographie vor sich; man kann aber auch Verteilungschromatographie nach unserer Technik ausführen. So haben wir ein Gemisch von Cymarin und Cymarol getrennt, indem wir mit Dimethylformamid getränktes Cellulosepulver als stationäre Phase und Tetrahydrofuran-Benzol als mobile Phase verwendeten.

Die Durchlaufgeschwindigkeit des Fliessmittels durch die gepackte Säule ist umgekehrt proportional der bereits durchlaufenen Strecke[17]). Um die Entwicklungszeiten

[14]) Wie wir nach Abschluss unserer Versuche feststellten, wurde Cellophan bereits von E. Ochiai & H. Takeuti, J. pharmaceut. Soc. Japan *58*, 724 (1938), empfohlen sowie nochmals in einer schönen Arbeit von A. Sabel & W. Kern, Chemikerzeitung *81*, 524 (1957); ihre Technik, die sich von der unten beschriebenen in wesentlichen Punkten unterscheidet, bürgerte sich jedoch bisher nicht ein.

[15]) Die normalen Adsorbentien der präparativen Chromatographie weisen Korngrössen von 0,1–0,3 mm auf, die hier verwendeten «feinst gepulverten» Adsorbentien von $< 0{,}08$ mm.

[16]) Aus diesem Grunde misslangen auch Versuche mit der «absteigenden» Technik.

[17]) Misst man während der Entwicklung zu verschiedenen Zeiten die Laufstrecke s_F der Fliessmittelfront, so lässt sich graphisch gemäss der Beziehung $s_F/\sqrt{t} = \text{const.}$ ermitteln, zu welcher Zeit die Front das Säulenende erreichen wird: A. Niederwieser, Privatmitteilung betr. Dünnschichtchromatographie.

in nützlichen Grenzen zu halten, wird die Säule mit Vorteil nicht länger als 40–45 cm gemacht. Sind die Rf-Werte klein, so kann man die Fliessmittelfront am offenen Ende der Säule austreten lassen. Um hier das Verdampfen zu beschleunigen und eine gleichmässige Durchlaufgeschwindigkeit zu erhalten[18]), haben wir in diesen Fällen am Säulenende eine Heizmanschette angelegt. Wird die Säule verkürzt, so erhält man demgemäss raschere Entwicklung[18]), was für empfindliche Substanzen vorteilhaft sein kann.

Die bisher von uns verwendeten Säulen wiesen Durchmesser von 1,8 bzw. 3,6 cm auf. Sie fassten ca. 70 bzw. 300 g Adsorbens (Kieselgel oder Aluminiumoxid); für die Chromatographie wurden ca. 100 bzw. ca. 300 ml Fliessmittel benötigt. Dank der hohen mechanischen Festigkeit der Cellophanrohre lässt sich das Adsorbens fest pressen: für Kieselgel ist die Packungsdichte ca. 4–5mal höher als auf der Platte. Höhere Packungsdichte bedingt längere Laufzeit und gibt schärfere Zonen, dagegen werden die Rf-Werte durch die Packungsdichte nicht beeinflusst.

Die Beladungskapazität lässt sich an Hand des Mengenverhältnisses von Adsorbens zu Substanz bei der analytischen Trennung auf der Dünnschichtplatte (bzw. dem Papierchromatogramm) abschätzen. Für Kieselgel und Aluminiumoxid hat sich das Verhältnis 1000:1, für Cellulose 5000:1 bewährt. Man kann so an Kieselgel- oder Aluminiumoxid-Säulen von 3,6 cm Durchmesser (300 g Adsorbens) 250–300 mg Substanzgemisch trennen[19]). Für grössere Mengen zu trennender Substanzgemische haben wir mehrere parallele Säulen der angegebenen Standardgrössen verwendet, welche gleichzeitig mit Hilfe eines Fliessmitteltanks entwickelt wurden. Man konnte auf diese Weise leicht bis zu ca. 1 g Substanzgemisch auftrennen. Zweifellos wird es auch möglich sein, Cellophanschläuche von grösserem Durchmesser zu verwenden.

Ein besonders wichtiger Punkt ist das *Auffinden der Substanzzonen* auf dem entwickelten Chromatogramm. Bei Chromatographie im Cellophanschlauch bieten sich u.a. folgende Möglichkeiten:

a) Handelt es sich um farbige Substanzen, wie z.B. bei dem bekannten Testgemisch von STAHL[20]), so kann man die Säulen direkt zerschneiden. Zur Kontrolle der Einheitlichkeit chromatographierten wir die einzelnen Fraktionen auf der Dünnschichtplatte.

b) Manche Substanzen zeigen eine UV.-Absorption; um solche Stoffe auf der Säule sichtbar zu machen, empfahlen BROCKMANN und Mitarbeiter[21]), dem Adsorbens Leuchtstoffe beizumischen, die bei Bestrahlen mit UV.-Licht fluoreszieren; ist die Säule mit Substanzen beladen, die im Anregungsbereich des Fluoreszenzstoffes absorbieren, erscheinen dunkle Zonen auf der Säule. – Cellophanschläuche eignen sich sehr gut an Stelle der von BROCKMANN empfohlenen Quarzrohre, da sie im UV. durchlässig sind. Für unsere Versuche mit Kieselgel und Aluminiumoxid verwendeten wir einen Zusatz von 1–2% manganaktiviertem Zinksilicat (Anregungsmaximum bei ca. 250 mμ, Emissionsmaximum bei ca. 525 mμ). Unter UV.-Beleuchtung konnten die

---

[18]) Bei Verdunsten des Fliessmittels wird s_F/t = const.

[19]) Die Beladungskapazität hängt auch von der jeweiligen Trennaufgabe ab.

[20]) Buttergelb, Sudanrot G und Indophenol[12]).

[21]) H. BROCKMANN & F. VOLPERS, Chem. Ber. *80*, 77 (1947); H. BROCKMANN & E. BEYER, Angew. Chem. *63*, 133 (1951).

Säulen nach der Lage der Zonen zerschnitten werden (Kontrolle mittels Dünnschicht chromatographie). Auf diese Weise trennten wir z. B. die Anthrachinon-β-carbonsäureester der Pregnanderivate I, II und III (Beispiel 3, exp. Tei), ferner Ätiansäureester (Beispiel 5, exp. Teil).

c) Auf Papierchromatogrammen und Dünnschichtplatten macht man Substanzen meist mittels eines Reagens sichtbar, das farbige oder im UV. fluoreszierende Flecke liefert. Auf die gleiche Weise kann man auch bei Säulen in Cellophanschläuchen verfahren. Man kann nämlich den Cellophanmantel leicht der Länge nach aufschlitzen, ohne dass der Säulenkern zerfällt. Dann kann man *entweder* auf die mantellose Säule einen Streifen Reagenslösung auftragen, die eine Farbreaktion ergibt; *oder* man führt in den Mantelschlitz einen Papierstreifen ein, den man ca. 10 min in Kontakt mit dem Säulenkern belässt, damit er sich mit Lösungsmittel und Substanz vollsaugt, worauf er getrocknet und wie üblich einer Farbreaktion unterworfen wird (Beispiel 2, exp. Teil).

d) In vielen Fällen kann man Substanzzonen an Hand der Rf-Werte lokalisieren, die man vorher auf Dünnschichtplatten oder Papierchromatogrammen am gleichen Adsorbens und im gleichen Fliessmittel beobachtet hat. Wir fanden eine befriedigende Übereinstimmung zwischen Rf-Werten der Platte und der Säule, wenn das Fliessmittel wenig flüchtig war; im anderen Fall zeigten sich erhebliche Differenzen. Es ist bekannt, dass die Rf-Werte von Dünnschichtchromatogrammen je nach der Dampfsättigung der Kammer differieren[12])[22]). Man kann diesem Übelstand abhelfen, indem man die Chromatographieplatte mit einer zweiten, sie nicht berührenden Glasplatte bedeckt[23]). Bei der Chromatographie auf der Säule lassen sich die Rf-Werte befriedigend reproduzieren (vgl. Tab. 3), vorausgesetzt, dass gleiches Adsorbens verwendet wird. Die Rf-Werte waren demnach nicht von der Laufzeit abhängig[24]). Um eine befriedigende Übereinstimmung in den Rf-Werten von Platte und Säule zu erreichen (vgl. Tab. 1), muss man für gleichmässige Vorbehandlung des Adsorptionsmittels sorgen, vor allem wenn es sich um Kieselgel handelt, dessen Eigenschaften sogar von einer Fabrikationscharge zur anderen stark wechseln. Zur Plattenchromatographie ist das Adsorbens bekanntlich mit 5% Gips versetzt und wird feucht aufgetragen und getrocknet. In den Cellophansäulen ist der Gips überflüssig, doch sollte, um eine Übereinstimmung der Rf-Werte mit denen von der Platte zu erzielen, das Kieselgel mit Wasser vorbehandelt und auf dieselbe Weise getrocknet werden.

Wenn die Fliessmittelfront noch in der Säule sichtbar ist, kann man die Zonen angenähert nach den Rf-Werten lokalisieren und die Säule entsprechend zerschneiden; wenn die Front bereits aus der Säule ausgetreten ist, kann man ihre Lage durch Extrapolation abschätzen, falls man ihre Wanderungsgeschwindigkeit (die von der Packungsdichte abhängt) gemessen hat. Zur Extrapolation kann man die Tatsache benutzen, dass der Fliessmittelnachschub mit konstanter Geschwindigkeit erfolgt, wenn die Front das Säulenende passiert hat[18]).

e) Können die Substanzzonen nicht auf der Säule lokalisiert werden, oder handelt es sich um eine quantitative Analyse über die gesamte Rohrlänge, so kann man die

[22]) M. Brenner & A. Niederwieser, Experientia *16*, 378 (1960).
[23]) M. Brenner & A. Niederwieser, Experientia *17*, 237 (1961).
[24]) Die Laufzeit hängt von der Dichte der Packung ab.

Tabelle 1. *Vergleich der Rf-Werte einiger Trennungen an Dünnschichtplatten* (Kieselgel G) *mit Säulen* (Kieselgel, Körnung < 0,08 mm), *bzw. Vergleich eines Papierchromatogramms mit einer Cellulosesäule*

Beispiel Nr.	Fliessmittel	Substanzen	Rf-Werte	
			Platte (bzw. Papier)	Säule
1	Benzol	Indophenolblau	0,11[25])	0,13
		Sudanrot G	0,22[25])	0,24
		Buttergelb	0,58[25])	0,59
2	Äthanol/ H_2O 7:3	L-Arginin	0,01	0,05
		β-Alanin	0,39	0,45
		L-Alanin	0,56	0,57
3	Petroläther/ $CHCl_3$ (30%)/ Essigester(15%)	I	0,19	0,22
		III (s. S. 268)	0,31	0,30
		II	0,37	0,34
4	Methyläthyl-keton	Cymarol	0,70	0,67
		Cymarin	0,85	0,85
5	Äther	A	0,38	0,27
		B (s. S. 268)	0,51	0,41
		C	0,75	0,61
6			(Papier)	(Cellulose)
	Tetra-hydrofuran/ Benzol 1:2	Cymarol	0,28	0,36
		Cymarin	0,40	0,56

Säule durch Zerschneiden in Scheiben aufteilen[26]) und aus den einzelnen Scheiben die organische Substanz eluieren, wägen und eventuell identifizieren (vgl. Fig. 3, exp. Teil).

Experimenteller Teil

Adsorbentien: Für die Trennung auf der Säule wird Adsorbens gleicher Körnung wie für die Dünnschichtplatten (< 0,08 mm), aber ohne Bindemittel (Gips o. ä.)[12]) verwendet. Nachteilige Beeinflussung der Trennung durch Anwesenheit von Bindemitteln konnte indessen nicht festgestellt werden.

Vorbehandlung des Kieselgels für die Säulentrennung: 1 kg Kieselgel[27]) wird mit 1500 ml dest. Wasser (kein Ionenaustauscherwasser) zu einem Brei angerührt und gut vermischt. Für die Beobachtung der Fluoreszenz werden ca. 15 g manganaktiviertes Zinksilicat[28]) zugemischt. Der Brei wird ca. 2 Tage bei 110° getrocknet. Anschliessend wird gesiebt. Die Flasche mit Adsorbens wird nur mit Filterpapier bedeckt und am gleichen Ort wie die vorbereiteten Dünnschichtplatten

[25]) M. Brenner & A. Niederwieser, Privatmitteilung.

[26]) Man kann leicht Scheiben bis hinab zu ca. 3 mm Dicke schneiden, ohne dass der Säulenkern zerbröckelt.

[27]) Kieselgel (Korngrösse < 0,08 mm): E. Merck, Darmstadt.

[28]) Leuchtstoffwerk G.m.b.H., Heidelberg.

aufbewahrt. Ohne diese Vorbehandlung konnte keine Übereinstimmung der Rf-Werte von Platte und Säule erzielt werden.

Herstellung der Säulen mit Cellophanmantel: Als Cellophanrohre eignen sich die im Handel erhältlichen nahtlos gezogenen Dialysierschläuche, welche mit Durchmessern von 20–150 mm angeboten werden. Ein Schlauchstück von 40–45 cm Länge wird zur Beseitigung der Faltkante 1–2 Min. in kaltes Wasser getaucht. Danach lassen sich die Schläuche durch leichtes Dehnen an den Enden etwas trichterförmig erweitern und auf ca. 5 cm lange Glasstutzen (s. Tab. 2) 2–3 cm weit aufschieben; das Glasrohr, welches den unteren Abschluss des Chromatographierohres bilden soll, ist zur Rohrseite hin geschlossen (s. Fig. 1).

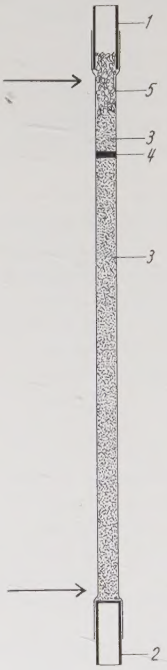

Fig. 1. *Herstellung der Chromatographiesäule im Cellophanschlauch (Maßstab 1:6)*
(1) offener Glasstutzen, (2) geschlossener Glasstutzen, (3) Adsorbens, (4) Startzone = Substanzgemisch auf Adsorbens, (5) Watterolle. Nach Herstellung der Säule wird an den mit Pfeilen bezeichneten Stellen abgetrennt (der Wattebausch soll ca. 1 cm über den Cellophanmantel hinausragen).

An den beiden Glasstutzen wird das feuchte Cellophanrohr mit Hilfe von zwei Stativklammern leicht gestreckt senkrecht eingespannt. Am oberen Ende wird ein durchbohrter Gummistopfen, durch welchen ein kurzes Glasrohr geführt ist, aufgesetzt. Der Schlauch wird prall aufgeblasen und verschlossen; bei richtiger Vorbereitung darf kein Gas entweichen. Während dem Trocknen zieht sich das Rohr etwas zusammen, unter gleichzeitigem Komprimieren des Gases, so dass die Cellophanhaut straff gespannt wird. Nach dem Trocknen verändert das Rohr seine Form nicht mehr; es kann geöffnet und mit Adsorbens gefüllt werden.

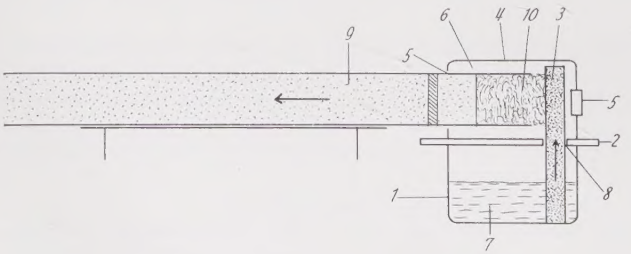

Fig. 2: *Fliessmitteltank zur horizontalen Entwicklung der Chormatogramme*
Bezeichnung der Teile im Text; Maßstab 1:6 (Startzone schraffiert)

Das Adsorbens wird in kleinen Portionen (etwa 5 cm Säulenhöhe in losem Zustand) trocken eingefüllt und mit Hilfe eines Stempels eingepresst, dessen Durchmesser 1 mm kleiner ist als der des Rohres. Auf diese Weise wird die Säule bis ca. 8 cm unterhalb des oberen Glasstutzens gefüllt; dann wird das Adsorbens mit einem genau passenden Filterpapier bedeckt. Bis hierher vorbereitete Säulen können auf Vorrat angefertigt werden; dazu werden sie mit einer Watterolle abgeschlossen, welche gleichzeitig das Lockerwerden des Adsorbens verhindert, und unter Belassung der beiden Glasstutzen aufbewahrt.

Tabelle 2. *Masse und Füllmengen der verwendeten Rohre von 40–45 cm Länge*

Breite gefaltet (cm)	2,8	5,6
Durchmesser nach Trocknung (cm)	1,8	3,6
Durchmesser der Glasstutzen (cm)	1,9–2,0	3,8–4,0
Füllmenge Adsorbens (g)	70	300
Beladungskapazität[29]) (mg)	50–70	250–300
Adsorbens für Substanzgemisch in der Startzone (g)	0,5–0,7	2,5–3,0

Das zu trennende Substanzgemisch wird ebenfalls trocken eingefüllt. Um dies sowohl bei festen wie bei flüssigen Substanzen zu erreichen, werden sie in geeigneten Lösungsmitteln gelöst und mit Adsorbens (s. Tab. 2) verrührt. Nach Vertreiben des Lösungsmittels im Vakuum wird das nun wieder trockene, substanzhaltige Adsorbens auf die Säule gegeben, festgepresst und wiederum mit einem Filterpapier bedeckt. Oberhalb dieser «Startzone» wird nochmals 2–3 cm hoch reines Adsorbens eingefüllt, mit einem Filterpapier bedeckt und die Säule mit einer Watterolle abgeschlossen (Fig. 1). Der obere Glasstutzen wird nun so abgetrennt, dass die Watterolle ca. 1 cm über das Cellophanrohr hinausragt. Der unterste Teil der Säule wird oberhalb des Glasstutzens abgeschnitten; die Säule bleibt an dieser Stelle offen.

Die *Entwicklung* geschieht am zweckmässigsten unter Verwendung des speziellen Fliessmitteltanks. Die liegende Säule wird mit der Watterolle an die lösungsmittelgetränkte Glasfrittenplatte gelegt, leicht angedrückt und in dieser Stellung fixiert. Das Fliessmittel wird sofort von der Watterolle aufgenommen und gelangt auf die Säule. Wenn man die Entwicklung nicht beendet, bevor die Fliessmittelfront das Säulenende erreicht hat, wird das freie Säulenende mit einem elektrischen Heizring versehen, welcher so aufgeheizt wird, dass das Fliessmittel vollständig verdunstet.

Der *Fliessmitteltank* (s. Fig. 2) besteht aus: a) einem unteren Behälter (1) aus Glas, welcher das Fliessmittel aufnimmt; b) einer plangeschliffenen Deckplatte (2) aus Glas mit Aussparung (8), durch welche eine Frittenplatte (3) in den unteren Behälter (1) gestellt werden kann; c) einem Deckel (4) (Glas) mit runden Bohrungen (5) von 2 und 4 cm Durchmesser, die jeweils an den Seiten angebracht sind, welche parallel zur Frittenplatte zu liegen kommen; (4) besitzt dieselben Abmessungen wie der untere Behälter (1); (1) und (4) sind plan geschliffen und werden von unten bzw. oben gegen (2) gepresst, so dass ein Innenraum gebildet wird, der dampfdicht nach aussen abgeschlossen ist, wenn die Bohrungen (5) geschlossen sind; d) einer Frittenplatte aus Glas (3) von ca. 1 cm Dicke, welche vertikal in den unteren Behälter (1) gestellt wird und durch die Aussparung (8) in der Abdeckplatte (2) in den oberen Raum (6) hineinragt; e) aussen an dem Tank befindlichen Stützen zur Befestigung der Säulen.

Die Glasfritte (3) wird in das Fliessmittel (7) gestellt, welches sich im unteren Behälter (1) befindet. Sie saugt sich voll und befördert das Fliessmittel in den oberen Raum (6) des Tanks. Durch die Bohrungen (5) in der Abdeckung (4) werden die Chromatographierohre (9) in den Tank eingeführt und mit den Watterollen (10) an die Frittenplatte angelegt.

Trennversuche. – 1) Farbstoffgemisch nach STAHL[12]): p-Dimethylaminoazobenzol + Indophenolblau + Sudanrot G. Trennung an Kieselgel. Säule von 3,6 cm Durchmesser, Fliessmittel Benzol. Laufzeit 8 Std., Laufstrecke der Front 28 cm. Nach dieser Zeit lag die blaue Zone 2,8–3,6 cm vom Start entfernt, die rote Zone 5,7–7,3 cm, die gelbe Zone 15,2–17,6 cm. Vergleich der Rf-Werte (Zonenschwerpunkte) mit denen der Dünnschichtplatte s. Tab. 1.

---

[29]) Die Beladungskapazität ist für Kieselgel und Aluminiumoxid etwa gleich; sie hängt von der jeweiligen Trennaufgabe ab.

2) 16 mg L-Alanin, 16 mg β-Alanin, 17 mg L-Arginin. Trennung an Kieselgel. Fliessmittel: 70% Äthanol/30% Wasser. Laufzeit auf der Säule (1,7 cm Durchmesser): 20 Std.; die Front war in dieser Zeit 20 cm weit gelaufen. – Nach Ende der Entwicklung wurde das Rohr der Länge nach aufgeschlitzt und ein Filterpapierstreifen eingeführt, der 10 min in Kontakt mit dem Rohrinhalt gelassen wurde. Dann wurde auf dem Papier in üblicher Weise mit Ninhydrin behandelt. Die Farbflecke auf dem Papierstreifen wurden dazu benutzt, die Säule in Abschnitte aufzuteilen; vom Inhalt jedes Abschnittes wurde eine Probe auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert (Kieselgel; 70% Äthanol/30% Wasser); diese Kontrolle (s. Tab. 3) ergab von jeder Fraktion nur einen einheitlichen Fleck.

Tabelle 3. *Kontrolle der Fraktionen durch Dünnschichtchromatographie*

Länge des Säulenabschnittes vom Start (cm)	Zonen-schwerpunkt (cm vom Start)	Inhalt
0– 1,6	1,0	L-Arginin
1,6– 2,8		wenig Arginin
2,8– 8,6		leer
8,6–10,4	9,0	β-Alanin
10,4–11,2		fast leer
11,2–12,4	11,5	L-Alanin

Vergleich der Rf-Werte mit denen der Dünnschichtplatte siehe Tabelle 1.

3) Gemisch: 11,3 mg 12-Anthrachinon-β-carbonsäureester von Pregnandiol-(3,12)-on-(20) (I); 18,7 mg 3,12-Anthrachinon-β-carbonsäure-diester von Pregnandiol-(3,12)-on-(20) (II); 16,4 mg Anthrachinon-β-carbonsäureester von Pregnanol-(12)-dion-(3,20) (III)[30]. Adsorbens: Kieselgel mit 1,5% manganaktiviertem Zinksilicat. Säulenlänge: 28 cm; Durchmesser der Säule: 1,7 cm. Fliessmittel: 55% Petroläther/30% Chloroform/15% Essigester. Laufzeit: 28 Std. Nach 12 Std. erreichte die Fliessmittelfront das Säulenende; durch Anlegen des Heizringes wurde für gleichmässige Verdunstung am Rohrende gesorgt. Der Fortgang der Trennung wurde unter einer Analysen-UV.-Lampe (253 mμ) beobachtet; die Substanzzonen lagen bei 10,5–13,0 cm (I); 14,5–16,8 cm (III) und 16,8–19,2 cm (II) ab Startzone; nach Zerschneiden der Säule Identifizierung der Komponenten mittels Dünnschichtchromatographie (Vergleich der Rf-Werte: s. Tab. 1); die Zonen von Substanz (II) und (III) überlappen teilweise.

Tabelle 4. *Horizontale Säulenchromatographie: Einfluss der Laufzeit*

Trennung Nr.	Gemisch-menge (mg)	Laufzeit (h)	Laufstrecke der Front (cm)	Rf-Werte (Zonenanfang und -ende)		
				Substanz		
				A	B	C
1	42	7,1	27,2	0,24–0,31	0,36–0,44	0,61–0,72
2	48	16,3	39,4	0,26–0,32	0,36–0,42	0,54–0,65
3	48	16,3	37,7	0,22–0,30	0,33–0,39	0,54–0,62
4	59	22,5	39,5	0,23–0,31	0,34–0,42	0,57–0,71

4) 34 mg Gemisch von Cymarin und Cymarol. Adsorbens: Kieselgel. Säule: 1,7 cm Durchmesser, 37 cm Länge. Fliessmittel: Methyläthylketon. Laufzeit: 11 Std. Zum Auffinden der Substanzen wurde die Säule in je 1 cm lange Abschnitte zerschnitten; jeder Abschnitt wurde einzeln mit Methyläthylketon eluiert und eine Probe jeder Lösung mit Dünnschichtchromatographie an Kieselgel kontrolliert (Sichtbarmachung mittels Tetranitrodiphenyllösung[31])). Vergleich

[30]) J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. *27*, 821 (1944).
[31]) R. Mauli, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. *40*, 284 (1954).

der Rf-Werte s. Tab. 1. Die Abschnitte 20,9–22,0; 22,0–23,0; 23,0–24,1; 24,1–25,2; 25,2–26,5; 26,5–27,7 cm (von Startzone an gemessen) enthielten ausschliesslich Cymarol; die Abschnitte 27,7–29,2 und 29,2–30,9 cm waren leer; der Abschnitt 30,9–32,8 cm enthielt ausschliesslich Cymarin.

5) Gemisch von Ätiansäurederivaten (aus Abbaureaktion von Tanghinigenin[32]). 200 mg Substanzgemisch (Ester) wurden in 4 Säulen von je 1,7 cm Durchmesser an Kieselgel (mit manganaktiviertem Zinksilicat) getrennt. Fliessmittel: Äther. Sichtbarmachung der Substanzzonen mittels UV. Tab. 4 zeigt, dass die Rf-Werte nicht von der Laufzeit und Laufstrecke abhingen.

Die Säulen wurden nach der Lage der Substanzzonen zerschnitten; Kontrolle mittels Dünnschichtchromatographie. Die einzelnen Substanzen wurden durch Elution aus der abgetrennten Zone isoliert.

6) Verteilungschromatographie: Cymarin + Cymarol. 50 g gereinigtes Cellulosepulver wurden mit einer Lösung von 18 g Dimethylformamid in 70 g Aceton verrührt; das Aceton wurde im Vakuum verdampft und das formamidgetränkte Cellulosepulver in den Cellophanschlauch gefüllt. Das Substanzgemisch (10 mg) wurde auf Cellulosepulver aufgebracht: 0,5 cm breite Zone auf der Säule; Säulendurchmesser 1,7 cm; Fliessmittel: Tetrahydrofuran/Benzol 1:2 (mit Dimethylformamid gesättigt). Laufzeit 3 Std. Laufstrecke der Fliessmittelfront 38 cm. Nach der Entwicklung wurde das Cellophanrohr der Länge nach aufgeschlitzt; auf dem Säuleninhalt wurde mit einer Kapillare zuerst ein Strich von Tetranitrodiphenyl, darauf von KOH-Lösung gezogen[31]): blaue Zonen bei Rf = 0,32–0,41 (Cymarol) und 0,52–0,62 (Cymarin). Vergleich mit den Rf-Werten der Papierchromatographie s. Tab. 1.

SUMMARY

The authors describe a technique which allows the direct transfer of the results of thin-layer chromatography or paper chromatography to preparative scale separations: a horizontal column is made using finely powdered adsorbents (silica gel, alumina, or cellulose powder) in a cellophane tube which can be cut into slices after development.

[32]) E. FLURY, Dissertation Basel 1962; Substanz A: kompliziertes Gemisch; Substanz B: 3-keto-7β, 8β-epoxy-14β-hydroxy-5β-ätien(1)säuremethylester; Substanz C: 3-Keto-8β, 14β-dihydroxyätiadien-(4, 6)-säuremethylester.

Curriculum vitae

Als Sohn des Verwaltungsbeamten Leo Fuchs und dessen Ehefrau, geb. Emma Meyer, wurde ich am 20. Mai 1924 in Freiburg i. Br. geboren.

Ich besuchte von 1930–1935 die Grundschulen in Wiblingen und Neu-Ulm und von 1935–1942 die Oberrealschulen in Neu-Ulm, Ravensburg und Villingen.

Am 8. Dez. 1942 wurde ich mit dem Reifevermerk zum Militärdienst (bis Kriegsende 1945) eingezogen.

Nach Absolvierung eines Propädeutikums an der Universität Freiburg i. Br. von Okt. 1945–Okt. 1946 immatrikulierte ich mich an der naturwissenschaftlichen Fakultät dieser Hochschule. Aus zeitbedingten Gründen musste ich 1948 mein Studium unterbrechen. Im Jahre 1953, nach mehrjähriger Tätigkeit in einem klinisch-chemischen Laboratorium, nahm ich an derselben Fakultät das Studium wieder auf. Nach Abschluss der Ausbildung in anorganischer und analytischer Chemie wechselte ich 1958 an die Universität Basel. Hier erhielt ich die praktische und theoretische Ausbildung in organischer Chemie, welche ich unter Einbeziehung der Nebenfächer Physik, physikalische Chemie und Mineralogie am 29. Okt. 1963 mit der Promotion abschloss.

Die Arbeiten zu meiner Dissertation standen unter der Leitung von Prof. Dr. H. Dahn.

Im Verlaufe meines Studiums besuchte ich Vorlesungen und Praktika folgender Dozenten: G. Brauer, M. Brenner, H. Dahn, K. Fässler, M. Gentner, M. Görteler, C. A. Grob, F. Hesse, P. Huber, Karragounis, H. Labhart, S. Maier, R. Mecke, T. Reichstein, H. Staudinger, Ch. Tamm, K. Wallenfels, E. Wenk, R. Wizinger.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. H. Dahn, schulde ich Dank und Anerkennung für die Anleitung und Unterstützung der wissenschaftlichen Arbeiten.

Auch gilt mein Dank meinen lieben Kollegen Dr. H. Moll für die Vermittlung seiner Erfahrung auf dem Gebiet der Sauerstoffisotopenanalyse sowie Dr. Alois Niederwieser für die regen und befruchtenden Diskussionen über Probleme der Dünnschichtchromatographie.